

## • 综述 •

## 基因分型在乳腺癌个体化治疗中的应用

陈振东 李敏 陈娟

临床上经常可以观察到组织学类型、临床分期,甚至激素受体状态都相同的乳腺癌患者,采用同样的治疗方案,治疗反应和预后却常有很大差异。这说明乳腺癌是一类高度异质性的肿瘤。目前学者们认为,这种现象是由于肿瘤的分子差异所致,但在临床上一直没有很好的对策。肿瘤分子病理学的发展以及由此产生的乳腺癌基因筛选技术,为解决这一问题提供了希望。本文综述乳腺癌相关基因及其表达产物检测对临床治疗的影响。

## 1 乳腺癌基因分型的发展

已经鉴别出的癌基因与抑癌基因数量众多,要找出某一肿瘤相对的专属基因并且对临床工作有所帮助是相当困难的。Perou 等<sup>[1]</sup>在 2000 年《Nature》上发表的文章被公认为乳腺癌基因筛选的成功先例。Perou 等用含有 8102 种人类基因及用其克隆的互补 DNA(cDNA)芯片,以乳腺导管腔上皮细胞(luminal epithelial cell)、基底细胞/肌上皮细胞(basal epithelial cell)以及其他肿瘤细胞系作为对照,对 65 份乳腺癌标本进行检测,发现不同肿瘤之间基因表型存在较大差异,但有 496 种基因在乳腺癌表达基本一致,即所谓的“固有基因亚群(intrinsic gene subset)”。根据与对照乳腺组织基因表型的比较又发现:乳腺癌 ER(+)组基因表达与乳腺的腔上皮细胞相似,称为 ER(+)的 luminal-like 型。ER(-)组有 3 种基因表达亚型:基因表达与乳腺基底细胞相似的称为 basal-like 型;高表达 c-erbB2 及其相关基因的称为 ERBB2(+)型;基因表达与乳腺纤维腺瘤及正常乳腺组织相似的称为 normal breast-like 型。稍后的研究表明,ER(+)的 luminal-like 型还可分为 A、B 两个亚型<sup>[2]</sup>。这 5 种基因亚型有各自特征<sup>[3]</sup>。

## 1.1 Luminal A 型

Luminal A 型高表达 ER、雌激素调节蛋白,TP53 突变率很低(13%)且与 ERBB2(+)基因的表达式有高度的一致性。TP53 是抑癌基因,正常组织中含量很低,高突变表示预后差。人类肿瘤 50%以上有 TP53 的突变,因此被作为细胞转化或恶性化的标志。此型预后最好,多见于绝经后女性,对化疗不敏感而适合于内分泌治疗。

## 1.2 Luminal B 型

Luminal B 型表达低到中度的腔上皮特异基因,包括 ER 及上面提到的其他基因,但也表达 ERBB2 等基因。此型与 ERBB2(+)相似,但其浸润性却远远低于 ERBB2(+),其肿瘤体积较小且激素受体水平较高。

## 1.3 Basal-like 型

Basal-like 型高表达角蛋白 5、干细胞生长因子受体/细胞表面分化抗原抗体、层黏连蛋白及脂肪酸结合蛋白等的基因,而 ER(+)的 luminal-like 型相关基因均阴性。这类肿瘤多见于青年女性及 BRCA1(人类乳腺癌易感基因 1,是一种抑癌基因,突变与家族性乳腺癌及卵巢癌的发生密切相关,约 40%~50%的遗传性乳腺癌由 BRCA1 突变引起)携带者,大部分(75%)有 TP53 突变及 BRCA1 突变。患者的 ER、PR、HER2 表达均为阴性,即所谓“三阴性乳腺癌”(triple-negative tumors),此型对化疗最为敏感,病理完全缓解率高,但预后最为恶劣。

## 1.4 ERBB2(+)型

ERBB2(+)型高表达 ERBB2,TP53 的突变率也很高(40%~86%),肿瘤分化较差,通常是组织学Ⅲ级。此型对化疗较为敏感,但预后较差。

## 1.5 Normal breast-like 型

Normal breast-like 型也称为 normal-like 型,高表达脂肪组织及非上皮细胞的基因,并强表达基底上皮基因,低表达腔上皮基因。此型对化疗最不敏感但预后较好。

# 2 基因分型试剂盒

根据被检基因的数目不同,目前在实验室应用的基因分型试剂盒有基因表达谱-70(70-gene profile)、基因表达谱-76(76-gene profile)、基因表达谱-21(21-gene profile)、基因表达谱-2(2-gene profile)以及基因表达谱-97(97-genomic grade gene profile)。现以基因表达谱-21 来说明其具体应用<sup>[4]</sup>。

基因表达谱-21 的商品名为 Oncotype DX。它首先从人类基因组 25 000 个基因中筛选出可能与乳腺癌有关的 250 个基因,这些基因被 3 项相互独立的临床研究共四百余例患者逐一验证,最后确定与无转移生存最为有关的基因 21 种,其中 16 种为癌基因,5 种为能使癌基因正常表达的参考基因(reference genes)<sup>[5]</sup>。采用 Oncotype DX 技术检测,可使用福尔马林固定、石蜡包埋的标本<sup>[6]</sup>。检测结果以复发风险评分(recurrence score,RS)表示,分值为 0~100 分,<18 分为复发低危,18~31 分为复发中危,>31 分为复发高危<sup>[7-8]</sup>。

在美国,Oncotype DX 已被 FDA 批准上市,检测的价格是 3650 美元,属较为昂贵的检查,但如果能避免患者接受不必要的治疗,价效比较高<sup>[9]</sup>。需要说明

的是,该检测不适用于乳腺原位癌和转移性乳腺癌。

基因分型要求很高,常规应用于临床还有困难。乳腺癌各基因亚型均有蛋白质标记物 ER、PR、c-erbB-2 的明显差异,用这些标记物对乳腺癌进行基因分型(表 1)也应该可行。现已证实,用蛋白质标记物间接检测乳腺癌基因亚型,敏感性可达到 76%,而特异性为 100%<sup>[10]</sup>,因此有望成为实用的检测技术。

表 1 乳腺癌各基因亚型的蛋白质表达

蛋白质标记物	Luminal A	Luminal B	Basal-like	ERBB2	normal-like
ER	+	+	-	-	-
PR	+	+	-	-	-
c-erbB-2	-	+	-	+	-
CK5/6	-	-	+	-	-
EGFR	-	-	+	-	-

### 3 乳腺癌基因亚型检测的临床应用

应用基因芯片技术检测乳腺癌基因表达谱,可以区别出乳腺癌的不同基因亚型,能更好地反映肿瘤的生物行为,预测早期乳腺癌诊断后 10 年内复发转移风险,筛选出适合三苯氧胺治疗者和化疗可能获益的患者,约 25% 的早期乳腺癌患者可因此避免接受不必要的化疗<sup>[5,7-8]</sup>。

#### 3.1 反映肿瘤的生物学行为

Carey 等<sup>[11]</sup>在 Carolina Breast Cancer Study 中收集 1993 年至 1996 年间 496 例散发性侵袭性乳腺癌,通过病例对照研究,发现 basal-like 型乳腺癌在绝经前非洲裔美国人为 39%,绝经后非洲裔美国人为 14%,而不是非洲裔的美国人无论有无年龄差别都是 16% ( $P < 0.001$ );luminal A 型在 3 种美国人中分别为 36%、59%、54%;ERBB2(+)型与各民族、月经状态均无关(6%~9%)。在非洲裔美国人中,乳腺癌的突变指数更高,核异形更明显,分级更高,ERBB2(+)型和 basal-like 型乳腺癌专项病死率高。由于绝经前非洲裔美国人 basal-like 型高于绝经后非洲裔美国人和不是非洲裔美国人,而 luminal A 型少见于是非洲裔的美国人,以致年轻的非洲裔美国人乳腺癌预后差。

乳腺癌约 4%~5%具有遗传性,年龄 $\leq 30$  岁的乳腺癌患者,20%~30%有 BRCA1、2 和 TP53 突变,预后很差。基因表达谱检测有助于检测出这部分患者并给予相应干预<sup>[12]</sup>。

#### 3.2 预测早期乳腺癌复发转移风险

Goldstein 等<sup>[13]</sup>观察 465 例激素受体阳性、淋巴结 0~3 枚阳性、阿霉素+环磷酰胺或多西紫杉醇以及三苯氧胺治疗的患者,多变量分析包括年龄、阳性淋巴结数目、肿瘤大小、肿瘤级别和 RS。结果表明:RS $< 18$  且阳性淋巴结数为 0~1 枚时,5 年复发率为 3.3%;阳性淋巴结数为 2~3 枚时,5 年复发率为

7.9%。RS是复发的独立指标,预测复发的准确性比检测联合临床病理指标要高。Mook等<sup>[14]</sup>用70-gene Amsterdam profile也有类似的结果。

### 3.3 筛选适合三苯氧胺治疗者和化疗可能获益的患者

Albain等<sup>[15]</sup>研究367例绝经后ER阳性及腋窝淋巴结阳性的患者。患者随机接受三苯氧胺或在环磷酰胺、阿霉素、氟尿嘧啶(CAF)方案化疗后序贯三苯氧胺治疗,评价终点是10年时无病生存期及总生存期。结果显示CAF方案化疗可使RS评分高危者获益,RS评分低危者获益不大,RS评分中危者获益不肯定。在美国乳腺与肠道外科辅助治疗研究组(National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project, NSABP)编号B20的研究中<sup>[16]</sup>,ER阳性、淋巴结阴性患者651例,其中227例只给予三苯氧胺治疗,424例接受化疗+三苯氧胺,结果也证明RS评分 $>31$ 的患者从化疗中获益更多,10年远处转移减少27.6%,RS评分 $<18$ 分者10年远处转移减少仅1.1%。Rouzier等<sup>[3]</sup>报告82例新辅助化疗患者,方案为CAF后序贯紫杉醇,basal-like型、ERBB2(+)型病理完全缓解均为45%,luminal型为6%,而normal breast-like型为0。Carey等<sup>[17]</sup>报道1998年至2003年间107例Ⅱ、Ⅲ期患者,用免疫组化方法检测HER-2、ER、PR以确定basal-like型(34例,32%),ERBB2(+)型(11例,10%)和luminal型(62例,58%),所有患者用环磷酰胺、阿霉素(CA)方案化疗4个疗程后,临床缓解率在ERBB2(+)型为70%,basal-like型为85%,luminal型为47%,病理学完全缓解分别为36%、27%、7%。basal-like型及ERBB2(+)型的无病生存期和总生存期差于luminal型。这很好地说明了新辅助化疗对乳腺癌有效却不能转化为生存期延长的原因,也说明简易的免疫组化检查可代替复杂的RT-PCR技术用于乳腺癌基因分型。

## 4 结语

基因分型用于乳腺癌个体化治疗是当前的研究热点,但还不够成熟,还有约10%的肿瘤不能进行基因分型。2007年圣·安东尼奥乳腺癌会议上的几篇论文也或多或少地受到质疑(表2)。此外,基因分型的重复性比较差,各种基因分型试剂盒对某些肿瘤的分型会出现分歧,哪一种应该作为标准没有定论。正在进行的国际多中心前瞻性随机研究MINDACT(Microarrays in Node-negative Disease May Avoid Chemotherapy Clinical Trial)<sup>[18]</sup>比较基因表达谱-70与经典临床病理因素在早期乳腺癌的应用价值,有可能在这一方面产生有意义的结果。

基因分型的费用毕竟昂贵,实际操作中影响因素又多,常规应用于临床尚有困难,蛋白质水平的检测要容易得多,但是否比传统的预测指标更加有用,其价值和可靠性同样需要更多研究结果的支持。



表 2 2007 年圣安东尼奥乳腺癌会议有关基因分型的论文及其评价

作者	结果	评价
Goldstein 等 <sup>[13]</sup>	Oncotype DX 复发评分能很好预测激素受体阳性、0~3 枚淋巴结阳性、含阿霉素辅助化疗患者的预后	没有设单独内分泌治疗患者的对照组
Mook 等 <sup>[14]</sup>	基因表达谱-70 与 1~3 枚淋巴结阳性患者的预后明显有关	研究对象的治疗方案不一致
Albain 等 <sup>[15]</sup>	Oncotype DX 可预告含阿霉素化疗的绝经后、激素受体阳性、腋下淋巴结阳性患者的受益	RS<18 者复发风险仍然高
Liang 等 <sup>[19]</sup>	Oncotype DX 复发评分能避免不必要的化疗	存在病例选择偏移

【关键词】 基因分型； 乳腺肿瘤； 个体化治疗

【中图法分类号】 R737.9

【文献标识码】 A

### 参考文献

- [1] Perou C M, SØrlie T, Eisen M B, *et al.* Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*, 2000,406:747—752.
- [2] Sorlie T, Tibshirani R, Parker J, *et al.* Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003,100:8418—8423.
- [3] Rouzier R, Perou C M, Symmans W F, *et al.* Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clin Cancer Res*, 2005,11:5678—5685.
- [4] Oratz R, Paul D, Cohn A, *et al.* Impact of oncotype DX on decision making in breast cancer clinical practice. *Breast Cancer Res Treat*, 2006,100:S100.
- [5] Paik S, Shak S, Tang G, *et al.* A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *N Engl J Med*, 2004,351:2817—2826.
- [6] Gianni L, Zambetti M, Clark K, *et al.* Gene expression profiles in paraffin-embedded core biopsy tissue predict response to chemotherapy in women with locally advanced breast cancer. *J Clin Oncol*, 2005,23:7265—7277.
- [7] Lo S S, Norton J, Mumby P B, *et al.* Prospective multicenter study of the impact of the 21-gene recurrence score (RS) assay on medical oncologist (MO) and patient (pt) adjuvant breast cancer (BC) treatment selection. *Proc Am Soc Clin Oncol*, 2007,25:22s.
- [8] Lyman G H, Cosler L E, Kuderer N M, *et al.* Impact of a 21-gene RT-PCR assay on treatment decisions in early-stage breast cancer: an economic analysis based on prognostic and predictive validation studies. *Cancer*, 2007,109:1011—1018.
- [9] Hornberger J, Cosler L E, Lyman G H. Economic analysis of targeting chemotherapy using a 21-gene RT-PCR assay in lymph-node-negative, estrogen-receptor-positive, early-stage breast cancer. *Am J Manag Care*, 2005,11:313—324.
- [10] Nielsen T O, Hsu F D, Jensen K, *et al.* Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res*, 2004,10:5367—5374.
- [11] Carey L A, Perou C M, Livasy C, *et al.* Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA*, 2006,295:2492—2502.
- [12] Lalloo F, Varley J, Ellis D, *et al.* Prediction of pathogenic mutations in patients with early-onset breast cancer by family history. *Lancet*, 2003,361:1101—1102.
- [13] Goldstein L J, Gray R, Badve S, *et al.* Prognostic utility of the 21-gene assay in hormone receptor-positive operable breast cancer compared with classical clinicopathologic features. *J Clin On-*

col, 2008, 26:4063—4071.

- [14] Mook S, Van't Veer L J, Rutgers E J, *et al.* Individualization of therapy using Mammaprint: from development to the MINDACT Trial. *Cancer Genomics Proteomics*, 2007, 4:147—155.
- [15] Albain K, Barlow W, Shak S, *et al.* Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal, node-positive, ER-positive breast cancer (S8814, INT0100). *Breast Cancer Res Treat*, 2007, 106:LBA10.
- [16] Paik S, Shak S, Tang G, *et al.* Gene expression and benefit of chemotherapy in women with node-negative, estrogen receptor-positive breast cancer. *J Clin Oncol*, 2006, 24:3726—3734.
- [17] Carey L A, Dees E C, Sawyer L, *et al.* The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clin Cancer Res*, 2007, 15:2329—2334.
- [18] Cardoso F, Van't Veer L, Rutgers E, *et al.* Clinical application of the 70-gene profile: the MINDACT trial. *J Clin Oncol*, 2008, 26:729—735.
- [19] Liang H, Brufsky A M, Lembersky B B, *et al.* A retrospective analysis of the impact of onco-type DX low recurrence score results on treatment decisions in a single academic breast cancer center. *Breast Cancer Res Treat*, 2007, 106:S105.

(收稿日期:2008-07-17)

(本文编辑:陈莉)

陈振东,李敏,陈娟. 基因分型在乳腺癌个体化治疗中的应用[J/CD]. 中华乳腺病杂志:电子版, 2009, 3(2):204—209.